黔产大青木化学成分及其抗菌活性研究

霍晓敏[1,2]，李丽君[1]，冉坚强[1]，薛站[1,2]，刘丽娜[3]，谭承建[1*]

（1. 贵州民族大学 民族医药学院，贵阳 550025；2. 贵州民族大学 化学工程学院，贵阳 550025；3. 贵州医科大学 生物与工程学院，贵阳 550025）

摘要：大青木（*Clerodendrum cyrtophyllum*）是苗族地区常用的药用植物，为研究黔产大青木的化学成分及其抗菌活性，该文采用大孔吸附树脂、反相柱色谱、硅胶柱色谱、Sephadex LH-20 柱色谱、半制备高效液相色谱等方法对大青木 95%乙醇提取物进行分离和纯化，并根据波谱数据鉴定所得化合物结构，采用 MTT 法评价其抗菌活性。结果表明从大青木中分离得到 18 个化合物，分别鉴定为木栓酮（**1**）、α-amyrin palmitate（**2**）、Sambuculin A（**3**）、22-dehydroclerosterol（**4**）、Isopetasin（**5**）、Taraxasteryl palmitate（**6**）、豆甾醇（**7**）、22-dehydroclerosterol-3-O-β-D-(6'-O-margaroyl)-glucopyranoside（**8**）、3-O-β-D-galactopyranosyl-(24β)-ethylcholesta-5,22,25-trien（**9**）、肉苁蓉苷 D（**10**）、Tortoside F（**11**）、Balanophonin（**12**）、木犀草苷（**13**）、类叶升麻苷（**14**）、木犀草素（**15**）、Acantrifoside E（**16**）、Trichotomside B（**17**）、肉苁蓉苷 C（**18**），其中化合物 **2-3**，**5-6**，**8-13**，**16-18** 为首次从大青木中分离得到。活性测试结果表明化合物 **13** 对乳房链球菌有一定的抑制作用。该研究丰富了大青木化学成分，为其在抗奶牛乳房炎药物的研发提供了参考。

关键字：大青木，化学成分，分离，鉴定，抗菌活性

中图分类号：Q946　　　　**文献标识码：**A　　　　**文章编号：**

Chemical constituents and antibacterial activities from *Clerodendrum cyrtophyllum*

HUO Xiaomin[1,2]，LI Lijun[1]，RAN Jianqiang[1]，XUE Zhan[1,2]，LIU Lina[3]，TAN Chengjian[1*]

(1. *College of Ethnic Medicine, Guizhou Minzu University*, Guiyang 550025, China；2. *College of Chemical Engineering, Guizhou Minzu University*, Guiyang 550025, China；3. *School of Biology Engineering, Guizhou Medical University*, Guiyang 550025, China)

Abstract： *Clerodendrum cyrtophyllum* is a common medicinal plant used by Miao people. In order to study the chemical constituents and antibacterial activities of *Clerodendrum cyrtophyllum* in Guizhou, China. Macroporous adsorption resin, reversed phase column chromatography, silica gel column chromatography, Sephadex LH-20 gel column, and high performance liquid chromatography were used to separate and purify 95% ethanol extracts from *Clerodendrum Cyrtophyllum*. The antibacterial activity was evaluated by MTT method. The results showed eighteen compounds were isolated and identified as Friedelin (**1**), α-amyrin palmitate (**2**), Sambuculin A (**3**), 22-dehydroclerosterol (**4**), Isopetasin (**5**), Taraxasteryl palmitate (**6**), Stigmasterol (**7**), 22-dehydroclerosterol-3-O-β-D-(6'-O-margaroyl)-glucopyranoside (**8**), 3-O-β-D-galactopyranosyl-(24β)-ethylcholesta-5,22,25-trien (**9**), Cistanoside D (**10**), Tortoside F

基金项目：国家自然科学基金项目（31360084, 31660103, 32160110）；贵州省科技计划项目（黔科合支撑[2019]2414）[Supported by National Natural Science Foundation of China (31360084, 31660103, 32160110); Guizhou Province Science and Technology Plan Project (QKH-[2019]2414)]。

第一作者：霍晓敏（1996-），硕士研究生，从事天然产物提取与分离，（E-mail）164451640@qq.com。

***通信作者：**谭承建，博士，教授，从事天然药物化学研究，（E-mail）tcj1229@163.com。

(**11**), Balanophonin (**12**), Luteoloside (**13**), Acteoside (**14**), Luteolin (**15**), Acantrifoside E (**16**), Trichotomside B (**17**), Cistanoside C (**18**). Among of them, Compounds **2-3**, **5-6**, **8-13**, **16-18** are isolated from *Clerodendrum cyrtophyllum* for the first time. Besides,biological activity test showed compound **13** showed antibacterial activity against *Streptococcus uberis*. The study enriches the chemical composition of *Clerodendrum cyrtophyllum*, and provides reference for the development of anti dairy cow mastitis drugs.

Key words: *Clerodendrum cyrtophyllum*，chemical constituents，isolation，identification，antibacterial activities

奶牛乳房炎是我国奶牛养殖业的常见疾病，主要是由金黄色葡萄球菌、链球菌、无乳链球菌等引起的炎症（王丽芳等，2020）。目前，奶牛乳房炎的防治主要依靠抗生素，但抗生素的长期滥用会引起耐药菌的产生，威胁公共卫生安全（徐鸿润等，2021）。临床上，中草药被广泛用于细菌感染、炎症消除等疾病的防治，因其毒副作用较小，且不易产生耐药性（张晓东等，2021），为抗奶牛乳房炎药物的研究提供了新思路。研究表明中草药的天然有效成分可以直接抑制致病菌的生长繁殖，减弱其致病性，雪白睡莲花、蒲公英、连翘、金银花等提取物均对奶牛乳房炎的致病菌如金黄色葡萄球菌、大肠杆菌有明显的抑制作用（钟华晨等，2020；刘丹丹等，2021）；中草药中皂苷类、黄酮类等天然活性成分可以通过影响炎症因子的分泌，增强免疫能力，抵御致病菌的入侵进而降低奶牛乳房炎的发病率（候昆等，2019）。

大青木（*Clerodendrum cyrtophyllum*）又称大青、路边青、山大青，为马鞭草科大青属植物，主要分布于我国华东、中南、西南（四川除外）各省区（裴鉴等，1982）。《本草纲目》中记载大青味苦性寒，有清热解毒的功效。在贵州省黔东南苗族地区，大青木是一味常用的民族药物，苗医用大青木的水煎液内服来治疗小儿感冒发烧，疱疹病毒感染如口疮、带状疱疹等疾病（陆科闵等，2006）。大青木提取物已经报道了具有一定的抗菌活性（白云霄等，2013），但其中的活性成分未被阐明。因此，为深入探究大青木中抗菌活性成分，拟为大青木抗奶牛乳房炎药物的研发提供基础研究数据。本研究以黔产大青木为研究对象，依托民族医药研究平台，采用现代色谱分离手段、现代波谱学技术和现代药理学方法，拟探讨以下问题：（1）黔产大青木乙醇提取物的化学成分；（2）分离得到的部分化合物的抗菌活性。

1 材料与方法

1.1 材料、仪器与试剂

1.1.1 材料

大青木药材采自于贵州省贵定县云雾镇，经贵阳中医学院孙庆文教授鉴定为马鞭草科大青属植物大青木（*Clerodendrum cyrtophyllum*）。凭证标本（GZQSY2015D45）存放于贵州民族大学天然药物化学实验室。乳房链球菌（*Streptococcus uberis*）、无乳链球菌（*Streptococcus agalactiae*）由广东省农业科学院提供。

1.1.2 仪器与试剂

Avance NEO 400 型核磁共振波谱仪（德国 BruKer 公司）；Xevo G2-S QTof 型质谱仪（美国 Waters 公司）；UltiMate 3000 型高效液相色谱仪（赛默飞世尔科技有限公司）；XBridge BEH C_{18} 半制备型色谱柱（10 mm×250 mm，5 μm，美国 Waters 公司）；Rotavapor R-3 型数显旋转蒸发仪（瑞士步琦有限公司）；LiChroperp RP-18（40-63 μm，德国 Merck 公司）；Sephedex LH-20（瑞典 Pharmacia 公司）；柱色谱硅胶（青岛海洋化工厂公司产品）；ZF-6 型三用紫外分析仪（上海嘉鹏科技有限公司）；HZT-A1000 型电子天平（福州闽衡电子仪器有限公司）；DB-1 型电热板（常州国华电器有限公司）；全波长酶标仪（芬兰 Thermo 公司）；全自动酶标仪（美国 BioTek 公司）；MTT 噻唑蓝（北京 Solarbio 生物科技有限

公司）；PBS 磷酸缓冲液（北京 Solarbio 生物科技有限公司）；SDS 十二烷基硫酸钠（分析纯，美国 Sigma 公司）；甲醇、二氯甲烷、石油醚、乙酸乙酯、正丁醇等分析纯试剂（成都科隆化学品有限公司）；甲醇、乙腈等色谱纯试剂（上海星可高纯溶剂有限公司）；显色剂为 5%硫酸乙醇溶液。

1.2 研究方法

1.2.1 提取与分离

将 25 kg 干燥的大青木（地上部分）粉碎，用 95%乙醇热回流提取 3 次，每次 2 h，提取液合并，经减压浓缩后得到粗浸膏 1 136 g。粗浸膏用水混悬，得到悬浮液，然后依次用等体积的石油醚、二氯甲烷、正丁醇进行萃取，之后分别对其进行减压浓缩得到石油醚部位 172 g，二氯甲烷部位 41 g，正丁醇部位 429 g，水部位 373 g。

取石油醚部位 103 g，经硅胶柱（石油醚：乙酸乙酯=200：1、100：1、50：1、20：1、5：1、1：1）梯度洗脱，得到 13 个不同馏分，石油醚：乙酸乙酯=200：1 洗脱得到馏分 Fr.a，石油醚：乙酸乙酯=100：1 洗脱馏分 Fr.b1-2，石油醚：乙酸乙酯=50：1 洗脱馏分 Fr.c1-2，石油醚：乙酸乙酯=20：1 洗脱馏分 Fr.d1-3，石油醚：乙酸乙酯=5：1 洗脱馏分 Fr.e1-3，石油醚：乙酸乙酯=1：1 洗脱馏分 Frf1-2。Fr.b1 经反复重结晶得到化合物 **1**（589.5 mg）；Fr.b2 经硅胶柱（石油醚：乙酸乙酯=50：1），Sephadex LH-20 柱（二氯甲烷：甲醇=1：1）得到化合物 **2**（8.4 mg），化合物 **3**（10.2 mg）。Fr.d1 经反复重结晶得到化合物 **4**（114.2 mg）；Fr.d2 经硅胶柱（石油醚：乙酸乙酯=30：1），Sephadex LH-20 柱（二氯甲烷：甲醇=1：1）得到化合物 **5**（7.2 mg）；Fr.d3 经硅胶柱（石油醚：乙酸乙酯=20：1）得到化合物 **6**（9.1 mg）。Fr.e2 经硅胶柱（石油醚：乙酸乙酯=10：1）得到化合物 **7**（9.8 mg）。Fr.f1 经硅胶柱（二氯甲烷：甲醇=30：1），两次 Sephadex LH-20 柱（二氯甲烷：甲醇=1：1）得到化合物 **8**（18.3 mg）；Fr.f2 经硅胶柱（二氯甲烷：甲醇=30：1）得到化合物 **9**（52.1 mg）。

取正丁醇部位 397 g，经大孔树脂 D101 柱以乙醇（30%、50%、70%、90%、100%）梯度洗脱，得到 11 个不同馏分，30%乙醇洗脱馏分 Fr.A；50%乙醇洗脱馏分 Fr.B1-3；70%乙醇洗脱馏分 Fr.C1-4；90%乙醇洗脱馏分 Fr.D1-2；100%乙醇洗脱馏分 Fr.E。Fr.B2 经反相 RP-18 柱分离，甲醇-水（35%~100%）梯度洗脱，得到 Fr.B2-1~Fr.B2-4。取 Fr.B2-3 经两次 Sephadex LH-20 柱（甲醇）得到化合物 **11**（11.7 mg）、半制备高效液相色谱（C_{18} 柱，水：乙腈=78：22）分离，得到化合物 **10**（19.2 mg）。取 Fr.B3 经反相 RP-18 柱分离，甲醇-水（35%~100%）梯度洗脱，得到 Fr.B3-1~3-3，取 Fr.B3-2 经 Sephadex LH-20 柱（甲醇）分离，硅胶（二氯甲烷：甲醇=30：1~1：1）梯度洗脱得到化合物 **12**（27.4 mg）。Fr.C1 经反相 RP-18 柱分离，甲醇-水（30%~100%）梯度洗脱，得到 Fr.C1-1~1-5。取 Fr.C1-2 经 Sephadex LH-20 柱（甲醇）分离，经半制备高效液相色谱（乙腈：0.1%磷酸水溶液=18：82）纯化后得到化合物 **13**（21.1 mg），化合物 **14**（15.3 mg）。Fr.C2 经反相 RP-18 柱分离，甲醇-水（30%~100%）洗脱后，得到 Fr.C2-1~2-4。取 Fr.C2-1 经两次 Sephadex LH-20 柱（二氯甲烷：甲醇=1：1）、硅胶柱（二氯甲烷：甲醇=20：1）得到化合物 **15**（37.4 mg）；取 Fr.C2-2 经 Sephadex LH-20 柱（二氯甲烷：甲醇=1：1），硅胶柱（二氯甲烷：甲醇=12：1），反复重结晶得到化合物 **16**（29.5 mg）；取 Fr.C2-3 经两次 Sephadex LH-20 柱（二氯甲烷：甲醇=1：1）、半制备高效液相色谱（水：甲醇=56：44）得到化合物 **17**（7.7 mg）。Fr.C3 经反相 RP-18 柱分离，甲醇-水（35%~100%）洗脱后，得到 Fr.C3-1~3-4。取 Fr.C3-3 经 Sephadex LH-20 柱（甲醇）、硅胶柱（二氯甲烷：甲醇=20：1）得到化合物 **18**（53.2 mg）。

1.2.2 抗菌活性试验

抗菌活性测定参考课题组前期建立的一种定量检测细菌活菌数的 MTT 方法（马林玉等，2019），取适量乳房链球菌、无乳链球菌分别接种于肉汤培养基，于 37 ℃培养 12 h，分别将菌液稀释至 10^6 CFU·mL^{-1}，备用。取 96 孔培养板，每孔加入菌液 90 μL，将 96 孔板划分

DMSO 阴性对照组、氨苄青霉素阳性对照组和 8 个浓度的给药组，每组设置 3 个复孔，取 10 μL 样品溶液加入给药组各孔。于 37 ℃暗培养 24 h（无乳链球菌无氧环境）。每孔加入 45 μL 0.5 mg·mL^{-1} MTT 溶液。空白调零组加入与 MTT 等量的 PBS，继续避光培养 4 h。显色的菌液离心（12000 rpm，4 ℃，10 min），弃掉上清液，加入 125 μL DMSO。向已完全溶解的产物中加入 150 μL 的 SDS，取 200 μL 混合溶液转移至 96 孔板中，用全自动酶标仪测定 OD_{570}。

2 结果与分析

2.1 结构鉴定

化合物 **1**：无色针状结晶，$C_{30}H_{50}O$，ESI-MS *m/z*：449.4 [M+Na]$^+$。^{1}H-NMR（400 MHz，$CDCl_3$） *δ*：1.18（3H，s，H-28），1.05（3H，s，H-27），1.01（3H，s，H-30），1.00（3H，s，H-26），0.95（3H，s，H-29），0.88（3H，d，*J* = 6.5 Hz，H-23），0.87（3H，s，H-25），0.72（3H，s，H-24）；^{13}C-NMR（100 MHz，$CDCl_3$） *δ*：22.41（C-1），41.65（C-2），213.36（C-3），58.34（C-4），42.27（C-5），41.41（C-6），18.37（C-7），53.22（C-8），37.57（C-9），59.60（C-10），35.47（C-11），30.12（C-12），39.38（C-13），38.42（C-14），32.55（C-15），36.14（C-16），30.63（C-17），42.91（C-18），35.75（C-19），28.30（C-20），32.90（C-21），39.82（C-22），6.96（C-23），14.79（C-24），18.08（C-25），18.80（C-26），20.39（C-27），32.22（C-28），35.16（C-29），31.92（C-30）。以上数据与文献（Toshihiro et al.，1992）一致，故鉴定化合物 **1** 为木栓酮。

化合物 **2**：白色油状物，$C_{46}H_{80}O_2$，ESI-MS *m/z*：687.4 [M+Na]$^+$。^{1}H-NMR（400 MHz，$CDCl_3$） *δ*：5.12（1H，t，*J* = 3.6 Hz，H-12），4.51（1H，m，H-3），2.29（1H，m，H-2′），1.07（3H，s，H-27），1.01（3H，s，H-25），0.98（3H，s，H-26），0.92（3H，d，*J* = 7.2 Hz，H-30），0.91（3H，s，H-23），0.89（3H，s，H-24），0.89（3H，d，*J* = 6.7 Hz，H-29），0.80（3H，s，H-28）；^{13}C-NMR（100 MHz，$CDCl_3$） *δ*：38.59（C-1），23.79（C-2），80.75（C-3），37.90（C-4），55.41（C-5），18.40（C-6），33.02（C-7），40.18（C-8），47.78（C-9），36.95（C-10），23.52（C-11），124.48（C-12），139.78（C-13），42.22（C-14），28.81（C-15），26.76（C-16），33.90（C-17），59.21（C-18），39.76（C-19），39.80（C-20），31.40（C-21），41.69（C-22），28.24（C-23），17.01（C-24），15.88（C-25），16.97（C-26），23.39（C-27），28.24（C-28），17.66（C-29），21.55（C-30）；173.88（C-1′），35.02（C-2′），34.58-22.85（C-3′-15′），14.28（C-16′）。以上数据与文献（Fatma et al.，2016）一致，故鉴定化合物 **2** 为α-amyrin palmitate。

化合物 **3**：无定形白色粉末，$C_{46}H_{80}O_2$，ESI-MS *m/z*：687.6 [M+Na]$^+$。^{1}H-NMR（400 MHz，$CDCl_3$） *δ*：4.69（1H，s，H-29），4.57（1H，s，H-29），4.47（1H，dd，*J* = 10.6，5.7 Hz，H-3），2.30（2H，t，*J* = 7.5 Hz，H-2′），1.68（3H，s，H-30），1.03（3H，s，H-27），0.94（3H，s，H-24），0.86（3H，s，H-23），0.79（3H，s，H-16′）；^{13}C-NMR（100 MHz，$CDCl_3$） *δ*：37.98（C-1），23.89（C-2），80.78（C-3），38.51（C-4），55.52（C-5），18.14（C-6），34.35（C-7），40.99（C-8），50.48（C-9），38.19（C-10），21.09（C-11），25.32（C-12），37.23（C-13），42.97（C-14），27.58（C-15），35.71（C-16），43.14（C-17），48.43（C-18），48.15（C-19），151.10（C-20），29.85（C-21），40.14（C-22），28.11（C-23），16.12（C-24），16.72（C-25），16.31（C-26），14.66（C-27），18.35（C-28），109.50（C-29），19.43（C-30）；173.89（C-1′），35.01（C-2′），25.24（C-3′），29.32-29.97（C-4′-13′），32.08（C-14′），22.84（C-15′），14.27（C-16′）。以上数据与文献（Lin et al.，1988）一致，故鉴定化合物 **3** 为 Sambuculin A。

化合物 **4**：无色针状结晶，$C_{29}H_{46}O$，ESI-MS *m/z*：433.3 [M+Na]$^+$。^{1}H-NMR（400 MHz，

$CDCl_3$） δ：5.35（1H，d，J = 3.5 Hz，H-6），5.24（1H，dd，J = 15.3，7.9 Hz，H-22），5.21（1H，dd，J = 12.7，7.5 Hz，H-23），4.69（2H，m，H-27），3.93（1H，m，H-3），1.25（3H，s，H-19），1.65（3H，s，H-26），1.02（3H，d，J = 4.7 Hz，H-21），0.83（3H，t，J = 7.6 Hz，H-29），0.69（3H，s，H-18）；^{13}C-NMR（100 MHz，$CDCl_3$） δ：37.33（C-1），31.72（C-2），71.92（C-3），42.34（C-4），140.82（C-5），121.80（C-6），31.98（C-7），32.02（C-8），50.23（C-9），36.60（C-10），21.15（C-11），39.76（C-12），42.35（C-13），56.93（C-14），24.40（C-15），29.79（C-16），55.96（C-17），12.14（C-18），19.48（C-19），40.28（C-20），20.88（C-21），137.29（C-22），130.12（C-23），52.08（C-24），148.71（C-25），20.31（C-26），109.60（C-27），25.79（C-28），12.23（C-29）。以上数据与文献（Kitajima et al.，1993）一致，故鉴定化合物 **4** 为 22-dehydroclerosterol。

化合物 **5**：无色油状物，$C_{20}H_{28}O_3$，ESI-MS *m/z*：339.2 [M+Na]$^+$。^{1}H-NMR（400 MHz，CD_3OD） δ：6.12（1H，m，H-3'），5.76（1H，s，H-9），2.38-2.44（2H，m，H-2），2.07（3H，s，H-13），1.98（3H，d，J = 1.5 Hz，H-5'），1.89（3H，s，H-4'），1.87（3H，s，H-12），1.04（3H，s，H-14），1.02（3H，d，J = 6.8 Hz，H-15）；^{13}C-NMR（100 MHz，CD_3OD） δ：31.46（C-1），29.70（C-2），73.27（C-3），46.28（C-4），42.23（C-5），40.77（C-6），127.79（C-7），192.36（C-8），125.67（C-9），167.43（C-10），144.29（C-11），20.96 （C-12），21.46（C-13），16.16（C-14），9.80（C-15）；167.58（C-1'），126.93（C-2'），137.56（C-3'），14.57（C-4'），19.36（C-5'）。以上数据与文献（Wang et al.，2014）一致，故鉴定化合物 **5** 为 Isopetasin。

化合物 **6**：无色针状结晶，$C_{46}H_{80}O_2$，ESI-MS *m/z*：703.6 [M+K]$^+$。^{1}H-NMR（400 MHz，$CDCl_3$） δ：4.64（2H，d，J = 7.1 Hz，H-30），4.48（1H，dd，J = 10.7，5.6 Hz，H-3），1.04（3H，s，H-27），1.03（3H，s，H-26），1.00（3H，s，H-25），0.99（3H，s，H-28），0.90（3H，s，H-23），0.88（3H，s，H-24），0.87（3H，d，J = 6.0 Hz，H-29），0.84（3H，s，H-16'）；^{13}C-NMR（100 MHz，$CDCl_3$） δ：38.44（C-1），23.71（C-2），80.55（C-3），37.85（C-4），55.47（C-5），18.17（C-6），33.98（C-7），40.95（C-8），49.94（C-9），37.02（C-10），21.40（C-11），25.18（C-12），38.75（C-13），42.33（C-14），25.87（C-15），40.01（C-16），35.28（C-17），47.65（C-18），38.54（C-19），153.66（C-20），25.04（C-21），39.02（C-22），27.97（C-23），16.57（C-24），15.89（C-25），16.36（C-26），14.14（C-27），26.30（C-28），19.25（C-29），107.40（C-30）；173.75（C-1'），34.05（C-2'），25.18（C-3'），29.69（C-4'-C-13'），31.94（C-14'），22.71（C-15'），18.10（C-16'）。以上数据与文献（Amarendra et al.，1981）一致，故鉴定化合物 **6** 为 Taraxasteryl palmitate。

化合物 **7**：白色针状结晶，$C_{29}H_{48}O$，ESI-MS *m/z*：451.4 [M+K]$^+$。^{1}H-NMR（400 MHz，$CDCl_3$） δ：5.35（1H，d，J = 5.1 Hz，H-6），5.15（1H，dd，J = 15.2，8.6 Hz，H-22），5.02（1H，dd，J = 15.2，8.6 Hz，H-23），3.53（1H，m，H-3），1.01（3H，s，H-19），0.92（3H，d，J = 6.5 Hz，H-21），0.85（3H，d，J = 3.5 Hz，H-27），0.83（3H，d，J = 1.7 Hz，H-26），0.81（3H，d，J = 4.5 Hz，H-29），0.68（3H，s，H-18）；^{13}C-NMR（100 MHz，$CDCl_3$） δ：37.39（C-1），29.29（C-2），71.96（C-3），42.46（C-4），140.89（C-5），121.87（C-6），32.04（C-7），32.04（C-8），50.27（C-9），36.65（C-10），21.23（C-11），39.82（C-12），42.42（C-13），56.91（C-14），24.45（C-15），29.07（C-16），56.19（C-17），12.00（C-18），19.54（C-19），40.64（C-20），21.23（C-21），138.46（C-22），129.41（C-23），51.38（C-24），31.78（C-25），21.36（C-26），19.17（C-27），25.55（C-28），12.12（C-29）。以上数据与文献（贾瑞芳等，2021）一致，故鉴定化合物 **7** 为豆甾醇。

化合物 **8**：无色油状物，$C_{52}H_{88}O_7$，ESI-MS *m/z*：847.6 [M+Na]$^+$。^{1}H-NMR（400 MHz，$CDCl_3$） δ：5.35（1H，d，J = 3.3 Hz，H-6），5.23（1H，dd，J = 15.2，7.8 Hz，H-22），

5.17（1H，dd，J = 15.2，7.1 Hz，H-23），4.70（2H，m，H-27），4.37（1H，d，J = 7.6 Hz，H-1′），1.99（3H，s，H-26），1.02（3H，s，H-19），1.01（3H，d，J = 6.6 Hz，H-21），0.99（3H，s，H-18），0.81（3H，s，H-29），0.69（3H，s，H-17"）；^{13}C-NMR（100 MHz，$CDCl_3$） δ：37.30（C-1），31.95（C-2），79.72（C-3），39.70（C-4），140.36（C-5），122.06（C-6），34.29（C-7），31.88（C-8），50.19（C-9），36.72（C-10），21.08（C-11），38.93（C-12），42.27（C-13），56.87（C-14），25.00（C-15），28.72（C-16），55.92（C-17），12.06（C-18），19.38（C-19），40.23（C-20），20.85（C-21），137.16（C-22），130.12（C-23），52.01（C-24），148.55（C-25），20.22（C-26），109.55（C-27），25.71（C-28），12.14（C-29）；101.26（C-1′），76.18（C-2′），73.77（C-3′），73.42（C-4′），70.38（C-5′），63.57（C-6′）；174.33（C-1"），34.29（C-2"），31.88（C-3"），29.70（C-4"-C-14"），24.33（C-15"），22.71（C-16"），14.13（C-17"）。以上数据与文献（Xu et al.，2013）一致，故鉴定化合物 **8** 为 22-dehydroclerosterol-3-O-β-D-(6'-O-margaroyl)-glucopyranoside。

化合物 **9**：白色无定形粉末，$C_{35}H_{56}O_6$，ESI-MS m/z：595.4 [M+Na]$^+$。^{1}H-NMR（400 MHz，DMSO） δ：5.33（1H，s，H-6），5.22（1H，dd，J = 12.6，4.8 Hz，H-22），5.19（1H，dd，J = 12.2，5.1 Hz，H-23），4.68（2H，s，H-27），4.22（1H，d，J = 7.8 Hz，H-1′），1.61（3H，s，H-26），0.98（3H，d，J = 6.7 Hz，H-21），0.96（3H，s，H-19），0.79（3H，t，J = 7.3 Hz，H-29），0.67（3H，s，H-18）；^{13}C-NMR（100 MHz，DMSO） δ：36.85（C-1），31.43（C-2），76.95（C-3），38.34（C-4），140.48（C-5），121.21（C-6），29.29（C-7），31.43（C-8），49.65（C-9），36.25（C-10），21.49（C-11），38.34（C-12），41.80（C-13），56.26（C-14），23.88（C-15），28.31（C-16），55.30（C-17），11.88（C-18），19.12（C-19），40.44（C-20），19.94（C-21），136.84（C-22），129.59（C-23），51.31（C-24），147.70（C-25），20.71（C-26），109.98（C-27），25.23（C-28），12.02（C-29）；100.81（C-1′），73.49（C-2′），76.78（C-3′），70.11（C-4′），76.95（C-5′），61.11（C-6′）。以上数据与文献（Saeedan et al.，1997）一致，故鉴定化合物 **9** 为 3-O-β-D-galactopyranosyl-(24β)-ethylcholesta-5,22,25-trien。

化合物 **10**：淡黄色粉末，$C_{31}H_{40}O_{15}$，ESI-MS m/z：675.3 [M+Na]$^+$。^{1}H-NMR（400 MHz，DMSO） δ：7.56（1H，d，J = 15.8 Hz，H-7'），7.29（1H，d，J = 1.7 Hz，H-2'），6.82（1H，d，J = 8.0 Hz，H-5'），6.40（1H，d，J = 15.8 Hz，H-8'），5.06（1H，s，H-1'"），4.38（1H，d，J = 7.8 Hz，H-1"），3.82（3H，s，3-OCH_3），3.79（3H，s，3'-OCH_3），2.76（2H，m，H-7），1.12（3H，d，J = 6.1 Hz，H-6'"）；^{13}C-NMR（100 MHz，DMSO） δ：132.80（C-1），112.70（C-2），147.90（C-3），147.42（C-4），117.34（C-5），121.25（C-6），36.68（C-7），72.22（C-8），56.41（3-OCH_3）；127.05（C-1'），117.96（C-2'），151.54（C-3'），149.77（C-4'），115.56（C-5'），124.99（C-6'），147.80（C-7'），113.98（C-8'），167.65（C-9'），57.33（3'-OCH_3）；104.03（C-1"），76.21（C-2"），80.95（C-3"），70.51（C-4"），76.24（C-5"），62.43（C-6"）；102.97（C-1'"），72.07（C-2'"），71.87（C-3'"），73.37（C-4'"），70.83（C-5'"），19.79（C-6'"）。以上数据与文献（高映等，2017）一致，故鉴定化合物 10 为肉苁蓉苷 D。

化合物 **11**：淡黄色粉末，$C_{26}H_{30}O_{11}$，ESI-MS m/z：541.2 [M+Na]$^+$。^{1}H-NMR（400 MHz，CD_3OD） δ：9.57（1H，d，J = 7.9 Hz，H-9'），7.61（1H，d，J = 15.7 Hz，H-7'），7.00（1H，d，J = 1.8 Hz，H-2），6.86（1H，dd，J = 8.2，1.9 Hz，H-6），6.78（1H，d，J = 8.1 Hz，H-5），6.74（1H，dd，J = 8.0，16.0 Hz，H-8'），4.37（1H，d，J = 7.8 Hz，H-1"），3.91（3H，s，3-OCH_3），3.83（3H，s，3'-OCH_3）；^{13}C-NMR（100 MHz，CD_3OD） δ：133.52（C-1），110.82（C-2），149.12（C-3），147.83（C-4），116.17（C-5），119.96（C-6），90.18（C-7），52.17（C-8），71.95（C-9），56.44（3-OCH_3）；129.67（C-1'），

114.39（C-2'），145.92（C-3'），152.75（C-4'），131.33（C-5'），120.29（C-6'），156.26（C-7'），127.14（C-8'），196.28（C-9'），56.76（3'-OCH_3）；104.34（C-1"），75.14（C-2"），78.03（C-3"），71.56（C-4"），78.17（C-5"），62.69（C-6"）。以上数据与文献（孟永海，2007）一致，故鉴定化合物 **11** 为 Tortoside F。

化合物 **12**：淡黄色粉末，$C_{20}H_{20}O_6$，ESI-MS *m/z*：379.1 $[M+Na]^+$。^{1}H-NMR（400 MHz，CD_3OD）δ：9.58（1H，d，J = 7.8 Hz，H-9'），7.62（1H，d，J = 15.8Hz，H-7'），7.29（1H，s，H-6'），7.23（1H，d，J = 1.3 Hz，H-2'），6.95（1H，d，J = 1.8 Hz，H-2），6.83（1H，dd，J = 8.2，1.8 Hz，H-6），6.78（1H，d，J = 8.1 Hz，H-5），6.69（1H，dd，J = 15.7，7.8 Hz，H-8'），5.61（1H，d，J = 6.4 Hz，H-7），3.91（3H，s，3'-OCH_3），3.82（3H，s，3-OCH_3）；^{13}C-NMR（100 MHz，CD_3OD）δ：133.91（C-1），110.55（C-2），149.19（C-3），147.83（C-4），131.25（C-5），119.99（C-6），90.10（C-7），54.65（C-8），64.54（C-9），56.78（3-OCH_3）；129.62（C-1'），114.21（C-2'），146.02（C-3'），152.94（C-4'），130.85（C-5'），119.80（C-6'），156.16（C-7'），127.09（C-8'），196.19（C-9'），56.37（3'-OCH_3）。以上数据与文献（Li et al.，2017）一致，故鉴定化合物 **12** 为 Balanophonin。

化合物 **13**：黄色粉末，$C_{21}H_{20}O_{11}$，ESI-MS *m/z*：471.1 $[M+Na]^+$。^{1}H-NMR（400 MHz，DMSO）δ：12.99（1H，s，5-OH），7.44（1H，d，J=8.3，2.2Hz，H-6'），7.42（1H，d，J = 2.1 Hz，H-2'），6.90（1H，d，J = 8.3 Hz，H-5'），6.78（1H，d，J = 2.1 Hz，H-8），6.75（1H，s，H-3），6.44（1H，d，J = 2.1 Hz，H-6），5.08（1H，d，J = 7.4 Hz，H-1"）；^{13}C-NMR（100 MHz，DMSO）δ：164.50（C-2），103.20（C-3），181.94（C-4），161.16（C-5），99.56（C-6），162.97（C-7），94.74（C-8），156.98（C-9），105.37（C-10）；121.39（C-1'），113.60（C-2'），145.82（C-3'），149.98（C-4'），116.02（C-5'），119.21（C-6'）；99.88（C-1"），73.15（C-2"），77.19（C-3"），69.56（C-4"），76.42（C-5"），60.63（C-6"）。以上数据与文献（周志强，2013）一致，故鉴定化合物 **13** 为木犀草苷。

化合物 **14**：黄色粉末，$C_{29}H_{36}O_{15}$，ESI-MS *m/z*：647.2 $[M+Na]^+$。^{1}H-NMR（400 MHz，CD_3OD）δ：7.56（1H，d，J = 12.8 Hz，H-7'），7.03（1H，d，J = 1.4 Hz，H-2'），6.92（1H，dd，J = 8.0，1.4 Hz，H-6'），6.75（1H，d，J = 6.6 Hz，H-5'），6.67（1H，d，J = 1.4 Hz，H-2），6.65（1H，d，J = 6.4 Hz，H-5），6.52（1H，dd，J = 1.4，7.8 Hz，H-6），6. 25（1H，d，J = 12.7 Hz，H-8'），5.16（1H，s，H-1'''），4.34（1H，d，J = 6.3 Hz，H-1"），1.06（3H，d，J = 4.9 Hz，H-6'''）；^{13}C-NMR（100 MHz，CD_3OD）δ：131.39（C-1），117.07（C-2），145.94（C-3），144.49（C-4），114.55（C-5），121.26（C-6），36.41（C-7），70.33（C-8）；127.53（C-1'），116.28（C-2'），146.66（C-3'），149.65（C-4'），116.48（C-5'），123.25（C-6'），148.01（C-7'），115.17（C-8'），168.31（C-9'）；104.00（C-1"），76.04（C-2"），81.65（C-3"），71.91（C-4"），75.78（C-5"），62.19（C-6"）；102.94（C-1'''），72.18（C-2'''），72.21（C-3'''），73.66（C-4'''），70.42（C-5'''），18.40（C-6'''）。以上数据与文献（高燕萍等，2016）一致，故鉴定化合物 **14** 为类叶升麻苷。

化合物 **15**：黄色粉末，$C_{15}H_{10}O_6$，ESI-MS *m/z*：309.0 $[M+Na]^+$。^{1}H-NMR（400 MHz，CD_3OD）δ：12.96（1H，s，5-OH），10.81（1H，s，7-OH），9.91（1H，s，3'-OH），9.39（1H，s，4'-OH），7.40（1H，dd，J = 8.3，2.3 Hz，H-6'），7.38（1H，d，J = 2.2 Hz，H-2'），6.88（1H，d，J = 8.3 Hz，H-5'），6.66（1H，s，H-3），6.43（1H，d，J = 2.1 Hz，H-8），6.18（1H，d，J = 2.0 Hz，H-6）；^{13}C-NMR（100 MHz，CD_3OD）δ：164.76（C-2），102.48（C-3），182.49（C-4），161.85（C-5），98.78（C-6），164.97（C-7），93.65（C-8），158.05（C-9），103.91（C-10）；122.32（C-1'），112.78（C-2'），145.68（C-3'），149.64（C-4'），115.41（C-5'），118.92（C-6'）。以上数据与文献（李勇军等，2005）一致，故鉴定化合物 **15** 为木犀草素。

化合物 **16**：白色结晶，$C_{17}H_{24}O_8$，ESI-MS *m/z*：379.1 $[M+Na]^+$。^{1}H-NMR（400 MHz，DMSO） *δ*：6.68（2H，s，H-3，5），6.33（1H，d，*J* = 16.3 Hz，H-7），6.24（1H，m，H-8），4.89（1H，d，*J* = 7.3 Hz，H-1'），3.76（6H，s，2-OCH_3，6-OCH_3），1.83（3H，d，*J* = 5.8 Hz，H-9）；^{13}C-NMR（100 MHz，DMSO） *δ*：134.07（C-1），153.16（C-2，6），104.54（C-3，5），133.62（C-4），131.21（C-7），125.34（C-8），18.61（C-9），56.81（2-OCH_3，6-OCH_3）；103.09（C-1'），74.64（C-2'），77.66（C-3'），70.40（C-4'），77.00（C-5'），61.37（C-6'）。以上数据与文献（刘燕等，2015）一致，故鉴定化合物 **16** 为 Acantrifoside E。

化合物 **17**：白色胶状，$C_{32}H_{50}O_{13}$，ESI-MS *m/z*：665.3 $[M+Na]^+$。^{1}H-NMR（400 MHz，CD_3OD） *δ*：6.47（1H，s，H-14），4.44（1H，d，*J* = 7.9 Hz，H-1'），4.33（1H，d，*J* = 7.8 Hz，H-1"），3.22（1H，d，*J* = 7.9 Hz，H-3），1.20（3H，s，H-20），1.19（3H，d，*J* = 6.8 Hz，H-17），1.17（3H，d，*J* = 6.9 Hz，H-16），1.01（3H，s，H-18），0.86（3H，s，H-19）；^{13}C-NMR（100 MHz，CD_3OD） *δ*：34.59（C-1），26.53（C-2），88.10（C-3），39.41（C-4），52.72（C-5），18.87（C-6），33.12（C-7），133.52（C-8），132.28（C-9），38.87（C-10），147.54（C-11），141.10（C-12），139.48（C-13），116.46（C-14），25.24（C-15），22.51（C-16），22.80（C-17），27.84（C-18），16.92（C-19），19.55（C-20）；106.62（C-1'），73.83（C-2'），76.86（C-3'），70.31（C-4'），76.74（C-5'），61.44（C-6'）；103.96（C-1"），74.08（C-2"），79.07（C-3"），69.66（C-4"），76.65（C-5"），60.90（C-6"）。以上数据与文献（Hu et al.，2018）一致，故鉴定化合物 **17** 为 Trichotomside B。

化合物 **18**：淡黄色粉末，$C_{30}H_{38}O_{15}$，ESI-MS *m/z*：637 $[M-H]^-$。^{1}H-NMR（400 MHz，CD_3OD） *δ*：7.59（1H，d，*J* = 15.8 Hz，H-7'），7.07（1H，s，H-2'），6.95（1H，d，*J* = 8.3 Hz，H-6'），6.80（1H，d，*J* = 3.2 Hz，H-5'），6.78（1H，d，*J* =3.2 Hz，H-2），6.73（1H，d，*J* = 1.8 Hz，H-5），6.66（1H，d，*J* = 1.8 Hz，H-6），6.28（1H，d，*J* = 15.9 Hz，H-8'），5.19（1H，s，H-1'''），4.37（1H，d，*J* = 7.9 Hz，H-1"），3.80（3H，s，3-OCH_3），2.80（2H，t，*J* = 6.8 Hz，H-7），1.09（3H，d，*J* = 6.2 Hz，H-6'''）；^{13}C-NMR（100 MHz，CD_3OD） *δ*：132.71（C-1），116.97（C-2），147.12（C-3），146.66（C-4），112.69（C-5），121.14（C-6），36.40（C-7），72.22（C-8），56.40（3-OCH_3）；127.53（C-1'），115.18（C-2'），147.37（C-3'），149.63（C-4'），116.48（C-5'），123.23（C-6'），147.97（C-7'），114.57（C-8'），168.27（C-9'）；104.02（C-1"），76.03（C-2"），81.63（C-3"），71.93（C-4"），75.80（C-5"），62.22（C-6"），102.93（C-1'''），70.43（C-2'''），72.02（C-3'''），73.67（C-4'''），70.32（C-5'''），18.42（C-6'''）。以上数据与文献（李友宾等，2005）一致，故鉴定化合物 **18** 为肉苁蓉苷 C。

图 1　化合物 **1-18** 结构式

Fig. 1　Structures of compounds **1-18**

2.2 抗菌活性结果

采用 MTT 法测试大青木粗提物对乳房链球菌、无乳链球菌的抗菌活性。结果表明，正丁醇部位 FrB3、FrC1、FrD2 组分对乳房链球菌有抗菌活性，IC_{50} 分别为 7.02 mg·mL^{-1}、0.89 mg·mL^{-1}、6.79 mg·mL^{-1}；FrB3、FrC1、FrC3、FrC4、FrD2 五份粗提物对无乳链球菌有抗菌活性，IC_{50} 分别为 2.38 mg·mL^{-1}、0.72 mg·mL^{-1}、1.31 mg·mL^{-1}、4.63 mg·mL^{-1}、0.98 mg·mL^{-1}。显示 FrC1 部位具有一定的抗菌活性。

采用同样的方法对经过粗筛活性较好的部位 FrC1 分离得到的 2 个单体化合物进行抗菌活性测试，测定结果为化合物 **13** 对乳房链球菌有一定的抑制活性，MIC 为 0.18 mg·mL^{-1}，对无乳链球菌无明显抑制活性；化合物 **14** 对乳房链球菌和无乳链球菌均无明显抑制活性。

3 讨论与结论

本研究对黔产大青木乙醇提取物中化学成分进行分离鉴定，从中共得到了 18 个化合物，分别为木栓酮（**1**）、α-amyrin palmitate（**2**）、Sambuculin A（**3**）、22-dehydroclerosterol（**4**）、Isopetasin（**5**）、Taraxasteryl palmitate（**6**）、豆甾醇（**7**）、22-dehydroclerosterol-3-O-β-D-

(6'-O-margaroyl)-glucopyranoside（**8**）、3-O-β-D-galactopyranosyl-(24β)-ethylcholesta-5,22,25-trien（**9**）、肉苁蓉苷 D（**10**）、Tortoside F（**11**）、Balanophonin（**12**）、木犀草苷（**13**）、类叶升麻苷（**14**）、木犀草素（**15**）、Acantrifoside E（**16**）、Trichotomside B（**17**）、肉苁蓉苷 C（**18**）。经查阅相关文献，其中化合物 **2-3**，**5-6**，**8-13**，**16-18** 为首次从大青木中分离得到。部分化合物的抗菌活性试验结果表明，化合物 **13** 对乳房链球菌有一定的抑制活性。

木犀草苷（**13**）是木犀草素（**15**）7-OH 配糖化后的一种苷，研究表明木犀草素（**15**）能通过破坏细菌细胞壁和细胞膜结构完整性，抑制 DNA 拓扑异构酶活性，来发挥抗菌效果（王倩等，2010），木犀草苷（**13**）对乳房链球菌的抑制作用是否也通过上述机制来实现，还有待于进一步深入研究。本次试验类叶升麻苷（**14**）未表现出抗菌活性，但该化合物具有较强抗氧化活性（杨建华等，2009），可以对抗因炎症反应而产生的过氧化物，修复炎症组织。奶牛乳房炎是由多种因素引起的炎症反应，主要是病原微生物的感染，常见致病菌有无乳链球菌、乳房链球菌、金黄色葡萄球菌等（张晓东等，2021）。此外，奶牛乳房组织新陈代谢旺盛，体内自由基含量过高引起氧化应激，亦可损伤奶牛乳房细胞进而诱发乳房炎（郭咏梅等，2021）。如果将具有抗奶牛乳房炎致病菌作用的木犀草苷（**13**）与对抗炎症反应的类叶升麻苷（**14**）联用，会不会显著增强对奶牛乳房炎的防治效果，后续还需进行探究。本研究丰富了大青木化学成分的物质基础，初步探讨了其抗菌活性成分，可为后续大青木抗奶牛乳房炎药物的研发提供一定参考，拓展苗族医药在动物疾病防治方面的应用。

参考文献：

AMARENDRA, PATRA, APURBA, et al., 1981. Carbon-13 resonance assignments of some friedelanes and taraxasteranes[J]. Org Magn Reson, 17(3): 166-168.

BAI YX, ZHANG NN, JIANG CY, 2013. Research on *in vitro* antibacterial activity of extract with Chinese herb pairs[J]. Resour Dev Mark, 29(6): 572-573. [白云霄，张妞妞，江长优，2013. 中药药对提取物体外抑菌活性研究[J]. 资源开发与市场，29(6)：572-573.]

FATMA ES, HANAA K, DINA AH, et al., 2016. Phytochemical investigation of the bioactive extracts of the leaves of *Ficus cyathistipula* Warb[J]. Z Naturforsch C, 71(5-6): 141-154.

GAO Y, PENG CY, CHEN XY, et al., 2017. Studies on the phenylethanoid glycosides from the fresh roots of *Rehmannia glutinosa*[J]. Chin Med Mat, 40(9): 2073-2076. [高映，彭财英，陈祥云，等，2017. 鲜地黄中苯乙醇类化合物分离与鉴定[J]. 中药材，40(9)：2073-2076.]

GAO YP, ZHONG GY, SHEN YH, 2016. Chemical constituents from incarvillea sinensis var. *Przewalskii*[J]. Chin Trad Herb Drugs, 47(5): 712-716. [高燕萍，钟国跃，沈云亨，2016. 黄花角蒿的化学成分研究[J]. 中草药，47(5)：712-716.]

GUO YM, YAN SM, 2021. Regulation and mechanism of selenium on oxidative stress and inflammation in dairy cows[J]. Chin J Anim Nutr, 33(8): 4213-4220. [郭咏梅，闫素梅，2021. 硒对奶牛乳腺氧化应激及炎症反应的调控作用及其机制[J]. 动物营养学报，33(8)：4213-4220.]

HOU K, TONG JJ, XIONG BH, et al., 2019. Application progress of plant extracts on prevention and treatment of mastitis in dairy cow[J]. Chin J Anim Nutr, 31(7): 3009-3015. [侯昆，童津津，熊本海，等，2019. 植物提取物防治奶牛乳房炎的应用进展[J]. 动物营养学报，31(7)：3009-3015.]

HU HJ, ZHOU Y, HAN ZZ, et al., 2018. Abietane diterpenoids from the roots of *Clerodendrum trichotomum* and their nitric oxide inhibitory activities[J]. J Nat Prod, 81(7): 1508-1516.

JIA RF, LIU HX, HUANG ML, et al., 2021. Chemical constituents from *Agastache rugosa*[J]. Chin Trad Herb Drugs, 52(10): 2884-2889. [贾瑞芳，刘荷秀，黄美玲，等，2021. 苏藿香化学成分研究[J]. 中草药，52(10)：2884-2889.]

KITAJIMA J, TANAKA Y, 1993. Constituents of *Prunus zippeliana* leaves and branches[J]. Chem Pharm Bull, 41(11): 2007-2009.

LIN CN, TOME WP, 1988. Antihepatotoxic principles of *Sambucus formosana*[J]. Planta Med, 54(3): 223-224.

LI JL, LI N, XING SS, et al., 2017. New neo-lignan from *Acanthopanax senticosus* with protein tyrosine phosphatase 1B inhibitory activity[J]. Arch Pharm Res, 40(11): 1265-1270.

LIU DD, LUO J, XIANG WW, et al., 2021. Antimicrobial and anti-inflammatory effects of crude extract of *Nymphaea candida* on major pathogens in cow mastitis in *Vitro*[J]. Prog In Vet Med, 42(7): 17-21. [刘丹丹，罗洁，向薇薇，等，2021. 雪白睡莲花粗提物对奶牛乳房炎主要致病菌体外抑菌和抗炎作用[J]. 动物医学进展，42(7)：17-21.]

LIU Y, WANG ZY, HE WJ, et al., 2015. Chemical constituents from stems and leaves of *Micromelum integerrimum*[J]. Acta Pharm Sin, 50(4): 475-479. [刘燕，王志尧，贺文军，等，2015. 小芸木茎和叶中化学成分研究[J]. 药学学报，50(4)：475-479.]

LI YB, LI J, LI P, et al., 2005. Isolation and characterization of phenylethanoid glycosides from *Clerodendron bungei*[J]. Acta Pharm Sin, (8): 722-727. [李友宾，李军，李萍，等，2005. 臭牡丹苯乙醇苷类化合物的分离鉴定[J]. 药学学报，(8)：722-727.]

LI YJ, HE X, LIU LN, et al., 2005. Studies on chemical constituents in herb of *Polygonum orientale*[J]. Chin J Chin Mat Med, (6): 444-446. [李勇军，何迅，刘丽娜，等，2005. 荭草化学成分的研究[J]. 中国中药杂志，(6)：444-446.]

LU KM, WANG FR, 2006. Miao Medical Science[M]. Guiyang: Guizhou Science Press, 206-208. [陆科闵，王福荣，2006. 苗族医学[M]. 贵阳：贵州科学出版社，206-208.]

MA LY, HU JY, LIN X, et al., 2019. Study on viable count of *Streptococcus agalactia* causing bovine mastitis by MTT method[J/OL]. Chin J Anim Infect Dis. [马林玉，胡家银，林煊，等，2019. MTT 法检测奶牛乳房炎无乳链球菌活菌数的研究[J/OL]. 中国动物传染病学报.http://kns.cnki.net/kcms/detail/31.2031.S.20190917.1045.011.html.]

MENG YH, 2007. Study on chemical constituents of *Cirsium Setosum*(Wild.) MB.[D]. Haerbin: Heilongjiang University of Chinese Medicine. [孟永海，2007. 小蓟的化学成分研究[D]. 哈尔滨：黑龙江中医药大学.]

PEI J, CHEN SL, 1982. Flora of China[M]. Beijing: Science Press, (65): 165. [裴鉴，陈守良，1982. 中国植物志[M]. 北京：科学出版社，(65)：165.]

SAEEDAN B, SUMAYYA S, CHOUDHAPY, et al., 1997. A steroidal glycoside from *Clerodendron inerme*[J]. Phytochemistry, 45(8): 1721-1722.

TOSHIHIRO A, KAZUHIRO Y, TOSHITAKE T, et al., 1992. Triterpenoid ketones from *Lingnania chungii* MoClure: arborinone, friedelin and glutinone[J]. Chem Pharm Bull, 40(3): 789-791.

WANG CF, LI JP, RU Y, et al., 2014. Petasins from the rhizomes of *Ligularia fischeri* and its derivatives[J]. Rec Nat Prod, 8(2): 156.

WANG LF, YANG J, ZHONG HC, et al., 2020. Pathogenic microorganisms associated contamination in raw milk of dairy cows with mastitis and corresponding control measures [J]. Anim Husb Feed Sci, 41(5): 52-57. [王丽芳，杨健，钟华晨，等，2020. 乳房炎源生鲜乳中病原微生物的污染现状及防控措施[J]. 畜牧与饲料科学，41(5)：52-57.]

WANG Q, XIE MJ, 2010. Antibacterial activity and mechanism of luteolin on *Staphylococcus aureus*[J]. Acta Microbiol Sin, 50(9): 1180-1184. [王倩，谢明杰. 2010. 木犀草素对金黄色葡萄球菌的抑菌活性及其机制[J]. 微生物学报，50(9)：1180-1184.]

XU RL, WANG R, DING L, et al., 2013. New cytotoxic steroids from the leaves of *Clerodendrum trichotomum*[J]. Steroids, 78(7): 711-716.

XU HR, LIU PY, XING XG, et al., 2021. Progress on probiotics and their replacement of antibiotics in the treatment of dairy cow mastitis[J]. Chin Dairy Cattle, (10): 1-4. [徐鸿润，刘沛尧，邢小光，等，2021. 益生菌及其替代抗生素治疗奶牛乳腺炎研究进展[J]. 中国奶牛，(10)：1-4.]

YANG JH, HU JP, RENA K, et al., 2009. Structure activity relationships of phenylethanoid glycosides in plants of cistanche salsa on antioxidative activity[J]. Chin Med Mat, 32(7): 1067-1069. [杨建华，胡君萍，热娜·卡斯木，等，2009. 肉苁蓉属植物中六种苯乙醇苷类化合物抗氧化活性的构效关系研究[J]. 中药材，32(7)：1067-1069.]

ZHANG XD, YANG WJ, MENG R, et al., 2021. Research progress on the effect of Chinese herbal feed additives on dairy cow mastitis[J]. Chin Feed, (9): 1-6. [张晓东，杨文娇，孟然，等，2021. 中草药饲料添加剂对奶牛乳房炎的影响研究进展[J]. 中国饲料，(9)：1-6.]

ZHAO JB, LU XH, XU XD, et al., 2012. Chemical constituents of leaves of *Lindera aggregata* (Sims) Kosterm[J]. Chin Pharm J, 47(21): 1702-1705. [赵建波，卢向红，徐向东，等，2012. 乌药叶化学成分的研究[J]. 中国药学杂志，47(21)：1702-1705.]

ZHONG HC, ZHANG SF, FENG XH, et al.,2020. Study on the antibacterial effect of plant extracts on the pathogenic bacteria of dairy cow mastitis[J]. Heilongjiang Anim Sci Vet Med, (23): 117-121. [钟华晨，张三粉，冯小慧，等，2020. 植物提取物对奶牛乳房炎致病菌的抑菌效果研究[J]. 黑龙江畜牧兽医，(23)：117-121.]

ZHOU ZQ, 2013. Studies on chemical constituents of *Callicarpa nudiflora*[D]. Nanchang: Nanchang University. [周志强，2013. 裸花紫珠化学成分的研究[D]. 南昌：南昌大学.]